

Univerzita Karlova v Praze

Přírodovědecká fakulta

Studijní program: Biologie

Studijní obor: Biologie



Marek Cíza

Mechanismy přirozené odolnosti quinoi vůči abiotickým stresům

Mechanisms of natural resistance of quinoa to abiotic stresses

Bakalářská práce

Školitel: doc. RNDr. Helena Lipavská, Ph.D.

Konzultant práce: RNDr. Hana Konrádová, Ph.D.

Praha, 2015

Poděkování

Chtěl bych poděkovat doc. RNDr. Heleně Lipavské, Ph.D. a RNDr. Haně Konrádové, Ph.D. za jejich trpělivý přístup, cenné rady a morální podporu, které mi věnovali při psaní této bakalářské práce. Díky patří i mé rodině za jejich podporu nejen při psaní této práce, ale i během celé doby bakalářského studia.

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracoval samostatně a že jsem uvedl všechny použité informační zdroje a literaturu. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

V Praze, 11.08.2015

Podpis

Obsah

1. Úvod.....	1
2.Odolnost vůči nízkým teplotám	4
2.1. Působení mrazu a mechanismy obrany proti němu	4
2.2. Působení chladu na aktivity enzymů sacharidového metabolismu	5
3.Odolnost quinoi vůči zasolení půdy	7
3.1. Charakterizace zasolených půd a desalinizační schopnost quinoi	7
3.2. Mechanizmy nakládání s ionty uvnitř pletiv	8
3.2.1. Odlišnost v nakládání s ionty Na ⁺ a K ⁺	8
3.2.2. Iontové transportéry a akvaporiny.....	11
3.3. Kompatibilní soluty.....	12
3.4. Polyaminy.....	14
3.5. Organické osmolyty	14
3.6. Porovnání s modelovým halofytem.....	15
4. Odolnost quinoi vůči suchu.....	15
4.1. Strukturní přizpůsobení nedostatku vody.....	15
4.2. Fyziologická přizpůsobení k udržení vodních poměrů	16
5. Další faktory ovlivňující pěstování quinoi	19
5.1. Požadavek na délku fotoperiody	19
5.2. Citlivost k houbovému patogenu.....	19
6. Závěr.....	20
7. Seznam použité literatury	21

Abstrakt

Quinoa je tradičně pěstovanou plodinou pocházející z oblastí přiléhajících k Andskému pohoří v Jižní Americe, kde je pěstována místním indiánským obyvatelstvem už přes 5000 let. Její mimořádná odolnost vůči abiotickým stresům, jako je zasolení půdy, sucho či mráz spolu se zcela výjimečnými výživovými vlastnostmi jejích semen jí vynesla název „superplodina“ a rok 2013 byl dokonce vyhlášen organizací FAO jako Mezinárodní rok quinoi. Tato rešerše poskytuje přehled současných znalostí o hlavních mechanismech zodpovědných za odolnosti quinoi vůči mrazu, zasolení a suchu. Okrajově se tato práce zabývá reakcí quinoi na napadení nejčastějším houbovým patogenem a taktéž i odlišnou citlivostí odrůd quinoi vůči délce fotoperiody, což jsou dva důležité faktory při rozšiřování kultivace quinoi mimo původní oblasti.

Klíčová slova: quinoa, působení nízkých teplot, zasolení, patogen, sucho, ABA, fotoperioda

Abstract

Quinoa is traditionally grown crop originating from areas adjacent to Andean Mountains in South America, where it is grown by local native population for over 5000 years. Its extraordinary resistance to abiotic stresses as salinity, drought or frost, along with quite exceptional nutritional qualities of the seed, earned it the designation „supercrop“ and the year 2013 was even announced by the FAO organization as the International Year of Quinoa. The main aim of this thesis is to identify the main mechanisms responsible for quinoa resistance to frost, salinity and drought. Marginally, this work also focuses on reaction of quinoa against an attack of most common fungal pathogen and also on different sensitivity of quinoa varieties towards the length of photoperiods, which are two important factors in expanding the cultivation of quinoa outside the original area.

Keywords: quinoa, low temperature effects, salinity, pathogene, drought, ABA, photoperiod

Seznam použitých zkratek:

ABA – kyselina abcisová

ADPG-PP – Adenosin Diphosphate Glucose-PyroPhosphorylase

AP – Alkaline Phosphatase

BADH – Betain Aldehyd Dehydrogenase

EBCs – Epidermal Bladder Cells

INV – Invertase

LEA – Late Embryogenesis Abundant

NLS – Nuclear Localization Signal

NHX – Na⁺/H⁺ antiporter

PUT – Putrescine

RAB – Responsive to ABA

RH – Relative Humidity

ROS – Reactive Oxygen Species

SOS 1 – Salt Overly Expressive 1

SPD – Spermidine

SPM – Spermine

SPS – Sucrose-6-Phosphate Synthase

SS – Sucrose Synthase

TIP2 – Tonoplast Intrinsic Protein 2

WUE – Water Use Efficiency

Ψ_w – vodní potenciál

1. Úvod

Quinoa [*Chenopodium quinoa* Willd] je dvouděložná, jednoletá pseudoobilovina z čeledi merlíkovitých (Chenopodiaceae), původem z Jižní Ameriky, dorůstající obvykle do výšky 150 cm. Z hlediska fixace uhlíku se jedná o tzv. C3 rostlinu. Cytotaxonomicky je quinoa řazena v rámci rodu *Chenopodium* do podsekcce *Cellulata*, kterou tvoří diploidní allotetraploidi ($2n = 4x = 36$) jako právě quinoa či blízkce příbuzný a v mnoha ohledech podobný druh *Chenopodium berlandieri* subsp. *nutalliae* (Bhargava et al., 2006). Tradičně je pěstována v oblastech přiléhajících k Andskému pohoří a její kultivaci je možné datovat zpět až do doby 5000 let př. n. l. (Repo-Carrasco et al., 2003). Genetická různorodost quinoi byla potvrzena ve studii Fuentes et al. (2012), kteří použitím 20 mikrosatelitových markerů na 34 odrůdách pocházejících z různých oblastí Jižní Ameriky potvrdili rozdělení quinoi do ekotypů, které se skládají z tzv. „Salares“ (oblast severní Chile), populací z nížin centrálního a jižního Chile, populací z vysočin And (oblast zahrnující území Peru, Bolívie a Argentiny) a populací z mezihorských údolí (zahrnující oblasti Ekvádoru a Kolumbie). Květenstvím quinoi jsou bohatě větvené laty (obr. č. 1), na kterých dozrávají semena ve formě nažek, která mohou mít barvu od bílé, přes žlutou až po fialovou či černou (obr. č. 2) (Ruiz et al., 2014).



Obr. č. 1 : Pole s rostlinami quinoi. Převzato z <http://www.activelivingzoomers.com/wp-content/uploads/2013/08/quinoa-plant.jpg>



Obr. č. 2: Variabilita v barvě semen quinoi. Převzato z http://theglobalfool.com/wp-content/uploads/2013/12/Colored_quinoa.jpg

Výživná semena, pro která je quinoa primárně pěstována, mají celkový obsah proteinů v rozmezí 15 - 17 % a mají vysoký obsah kvalitních proteinů, zvláště pak albuminů a globulinů, které mají obsah esenciálních aminokyselin podobný mléčnému proteinu kaseinu (Repo-Carrasco et al., 2003; Stikic et al., 2012). Co se týče obsahu lipidů, semena quinoi jsou bohatá na obsah zdraví prospěšných nenasycených mastných kyselin, zvláště pak na omega-6 mastnou kyselinu linoleovou zastoupenou až 56 % z celkového obsahu 5 – 10 % mastných kyselin v semenech, a která tedy tvoří většinu z obsahu lipidů zjištěných u semen quinoi (Przybylzszy et al., 1994; Ahmed et al., 1998). Ve vztahu k lipidům je důležité zmínit i obsah tokoferolů neboli vitamínů skupiny E. Ty jsou známé pro své silné antioxidační vlastnosti v ochraně před oxidací tuků přímo v semenech, dále pomáhají tělu zbavit se škodlivých volných radikálů působících na buněčných membránách, a jsou podle výsledků publikovaných Yao Tangem et al. (2015) obsaženy v semenech quinoi ve všech svých čtyřech známých homolozích (tj. α -, β -, γ -, δ - tokoferoly). Dalšími antioxidanty zastoupenými v quinoe jsou flavonoidy, jejichž obsah se v závislosti na odrůdě může pohybovat mezi 36 – 144 mg ve 100

g semen, přičemž hlavní zástupce těchto látek v semenech quinoi tvoří quercetin a kaempferol (Repo-Carrasco-Valencia et al., 2010). Obsah škrobu v mouce ze semen quinoi se podle Ranhotry et al. (1993) pohybuje okolo 58 % a další 3 % tvoří jednoduché cukry. Díky těmto výjimečným výživovým charakteristikám je quinoa využitelná v široké škále výrobků potravinářského průmyslu, kde mohou být použita buď celá semena, či z nich umletá mouka při přípravě různých druhů pečiva a jako součást dětské výživy (Repo-Carrasco et al., 2003). Důležitý je v tomto kontextu i fakt, že quinoa neobsahuje lepek, a je tudíž vhodná i jako potravina pro lidi nemocné celiakií (Ruiz et al., 2014).

Hlavní překážkou v bezproblémové konzumaci semen quinoi je bezpochyby obsah saponinů v obalu semen, které způsobují hořkou chuť a je tedy nutné je před konzumací odstranit. Práce spojené s odstraňováním těchto látek ze semen tradičně zahrnují opakované mytí a následné tření semen o látku, což je pro běžné samozásobitele poměrně náročný úkon, a proto nejen u domorodých indiánů získávají stále více na oblibě kultivary quinoi s nízkým obsahem saponinů, jmenovitě například kultivar Tunkahuan (Skarbo, 2015). Fakt, že se původně široká paleta odrůd pěstovaná původními obyvateli postupně vytrácí a pěstování quinoi se pomalu mění i u těchto tradičních „udržovatelů genetické diverzity“ v plodinu pěstovanou monokulturně jen v omezeném počtu kultivarů, považuje Skarbo et al. (2015) za velmi nepříznivý jev, který může v budoucnu vést ke snížení genetické variability a následné náchylnosti vůči změnám klimatu či napadením škůdci.

Cílem této práce je shrnout současné znalosti o mechanismech odolnosti a přizpůsobení quinoi vůči několika typům abiotických stresů, se kterými se rostliny musejí vypořádávat, ať už v tradičních oblastech pěstování, či při zavádění kultivace ve zcela odlišných oblastech světa.

2.Odolnost vůči nízkým teplotám

Nízké teploty představují jedno z hlavních omezení v rozšíření druhů na Zemi (Rosa et al., 2004). Působení nízkých teplot v sobě zahrnuje jednak působení chladu, který může nepříznivě ovlivňovat metabolické pochody v rostlinách, a jednak působení mrazu, který může způsobit mechanické poškození buněk při tvorbě krystalů vody.

2.1. Působení mrazu a mechanismy obrany proti němu

Mráz je jedním z abiotických faktorů, které mohou výrazně negativně působit na růst rostlin. V původních oblastech pěstování quinoi, které se nacházejí v Peru a Bolívii v nadmořských výškách kolem 4000 m n. m., vykazují denní a noční teploty výrazné změny, a podle Jacobsena et al. (2007) se zde může noční mráz vyskytovat až 200 dní v roce. Přirozeně se vyskytující typy mrazu zahrnují jednak tzv. radiační mráz, který se objevuje při vysoké vzdušné vlhkosti a většinou nepůsobí větší poškození, a jednak tzv. konvektivní mráz, který je typicky spojen s přílivem suchého vzduchu a může způsobovat nekrotické skvrny (Ruiz, 1995 cit. Jacobsen et al., 2007). Stone et al. (1993) ve své studii uvádějí, že schopnost rostlin přizpůsobit se mrazu se skládá přinejmenším ze dvou složek, a sice přímé tolerance rostliny vůči mrazu bez předchozí aklimace, a tzv. chladové aklimace při nízkých teplotách. Jacobsen (2005) v souvislosti s mrazovou odolností u quinoi studoval jednak kultivary pěstované v peruánských údolích, která se nachází ve výškách okolo 2500 m n. m., a dále kultivary, pěstované na tzv. altiplanos ve výškách až kolem 3800 m n.m. Z počátečního vzorku kultivarů dále vybral dva, u kterých sledoval reakce na nízkou teplotu za podmínek odlišné relativní vlhkosti vzduchu. Kultivar Quillahuaman z oblasti údolí byl celkově náchylnější k mrazovému poškození než kultivar Witulla původem z vyšších poloh. Důležitým faktorem v mrazovém poškození rostlin se zdála být právě i hodnota relativní vlhkosti vzduchu (RH), přičemž vyšší hodnoty RH vedly vždy k menšímu mrazovému poškození, nezávisle na testovaném kultivaru. Rovněž i vývojové stadium rostlin hrálo roli v odolnosti vůči mrazu, kdy v raných fázích vývoje byly rostliny poškozovány mrazem méně, než v pozdějších fázích. Největší škody působil mráz v období formování květenství a při samotném kvetení, což je ve shodě s dalšími publikovanými výsledky (Canahua et Rea, 1979).

Jacobsen et al. (2005) se dle svých měření domnívají, že rozdíly v toleranci mrazu mezi těmito dvěma kultivary by mohly být dány lepší schopností kultivaru Witulla akumulovat rozpustné sacharidy a proteiny, které jsou obecně spojovány s mrazovou odolností rostlin. Vyšší hodnoty obsahu prolinu byly paradoxně naměřeny u méně odolného

kultivaru Quillahuaman, což může naznačovat, že prolin nehraje u quinoi tak výraznou roli při stresu působeném mrazem. Jacobsen et al. (2007) ve své další studii mrazové odolnosti, ve které opět použili dva výše zmíněné kultivary quinoi, zjistili, že se při chladové aklimaci při 4 °C po dobu 10 dní snížila teplota supercoolingu (tzn. bodu tvorby krystalů v pletivech rostliny) až na -8 °C. Autoři tedy navrhují, že hlavním mechanismem, který propůjčuje quinoi odolnost vůči mrazu, je její schopnost aklimace při nízkých nemrazových teplotách. Desetinásobný nárůst v koncentraci rozpustných sacharidů, jako jsou například sacharóza, glukóza či fruktóza, si autoři vysvětlují jejich využitím při osmoregulaci, a dále i jejich působením jako tzv. kryoprotektantů, které zabraňují nepříznivým účinkům mrazu na vlastnosti membrán a strukturu proteinů.

2.2. Působení chladu na aktivity enzymů sacharidového metabolismu

Předmětem práce Rosy et al. (2004) bylo zjistit reakce časných stádií semenáčů quinoi na chlad na úrovni akumulace jednoduchých sacharidů a změn aktivit enzymů zapojených v jejich metabolismu. Z těchto enzymů se autoři zaměřili hlavně na aktivity invertázy (INV), sacharózasyntázy (SS), sacharóza-6-fosfátsyntázy (SPS) a α -amylázy v dělohách a osách klíčnicích rostlin. Akumulované množství sacharózy v dělohách rostlin bylo podobné jak u chladem ošetřených, tak i u kontrolních rostlin. Odlišná situace byla zjištěna v osách klíčnicích rostlin, u kterých klesal obsah sacharózy spolu s progresivně se zvyšující aktivitou INV. Vyšší hodnoty aktivity INV v osách klíčnicích embryí v porovnání s dělohami si vysvětlují autoři vyšší spotřebou sacharidů, které zde zabezpečují dlouhivý růst buněk. Zjištěné nízké hodnoty aktivity SS ve stejné oblasti při ošetření 5 °C by mohly dle autorů značit nižší spotřebu UDP-glukózy při pomalejším růstu způsobeném nízkými teplotami. Zjištěné hodnoty aktivity SPS v děložních lístcích i osách klíčnicích rostlin byly vždy velmi nízké, a proto tento enzym zřejmě nehrál žádnou významnější roli u sledovaných rostlin. Klíčení semen quinoi při teplotě 5 °C vykazovalo pouze 4 hodinové zpoždění oproti kontrole klíčené při 25 °C. Toto zpoždění připisují autoři spíše efektu nízké teploty na aktivitu enzymů, než efektu sníženého příjmu vody, který je nízkými teplotami taktéž inhibován.

Ve studii Rosy et al. (2009) byly v závislosti na působení nízkých teplot sledovány u semenáčů quinoi aktivity enzymů zapojených v metabolismu sacharózy a škrobu. V této studii však nebylo sledováno pouze působení nízkých teplot, ale i simultánně působící stres ze zasolení půdy působený zvýšenými koncentracemi NaCl. Růst děloh, hypokotylu a kořene rostlin byl negativně ovlivněn nízkými teplotami v porovnání s kontrolními semenáči

pěstovanými při vyšších teplotách, ale nebyly zjištěny žádné odlišnosti mezi rostlinami vystavenými soli a chladu a rostlinami rostoucími pouze za nízkých teplot. Změny však byly patrné v obsahu sacharidů v děložních listech. Vysoká hodnota obsahu sacharózy zjištěná v dělohách semenáčů vystavených soli a chladu by podle autorů mohla značit spotřebu uhlíkových zásob na syntézu sacharózy, která je známým osmotikem akumulovaným v buňkách při stresových podmínkách. Nízké teploty a solný stres vedou i k akumulaci volných hexóz, jako jsou například glukóza a fruktóza (Rosa et al., 2004). V reakci na nízké teploty jsou tyto rozpustné sacharidy důležité hlavně proto, že snižují bod, kdy začíná mrznout voda obsažená v pletivech rostlin, udržují vlastnosti buněčných membrán a slouží jako pohotovostní energetická rezerva (Jacobsen et al., 2007). Ve studii Rosy et al. (2009) sice byla u stresovaných semenáčů naměřena vysoká aktivita kyselé invertázy, enzymu štěpícího sacharózu na glukózu a fruktózu, nicméně ještě vyšší hodnoty byly naměřeny v nestresovaných kontrolních rostlinách, což si autoři vysvětlují spotřebou těchto sacharidů při aktivnějším růstu těchto rostlin. Zvýšené hodnoty aktivity INV u semenáčů během prvních dnů po vyklíčení autoři připisují vyšší spotřebě rozpustných sacharidů pro osmotické přizpůsobení, a je to v souladu s faktem, že nejvyšší hodnoty glukózy byly v této studii naměřeny právě v dělohách rostlin vystavených působení soli. Zajímavým faktem taktéž bylo, že u chladem ošetřených semenáčů, použitých jako kontrola pro rostliny ošetřené solí, byla zjištěna vysoká hodnota obsahu fruktózy, která však nebyla zjištěna u rostlin stresovaných zasolením. Tam převládala akumulace sacharózy a glukózy, která by mohla být podle podle Rosy et al. (2009) spojena s osmotickým přizpůsobením. S prodlužujícím se časem experimentu se dále zvyšovaly obsahy fruktózy u chladem ošetřených semenáčů, a tedy tento monosacharid může hrát úlohu v pozdějších fázích při růstu quinoi. U rostlin stresovaných solí byl jednou z dále sledovaných charakteristik i obsah škrobu. V jeho syntéze hraje jednu z klíčových úloh enzym ADP-glukóza-pyrofosforyláza (ADPG-pyrofosforyláza), který katalyzuje reakci, v které vznikají volné jednotky ADP-glukózy, které se dále zabudovávají do řetězce škrobu (Balicora et al., 2004). Ačkoli v rostlinách vystavených kombinovanému stresu zasolení a chladu v porovnání s kontrolními rostlinami stresovanými pouze chladem nebyly pozorovány signifikantní odlišnosti v aktivitách ADPG-pyrofosforylázy, nejvyšší hodnoty obsahu škrobu byly naměřeny v dělohách kontrolních chladem ošetřených rostlin. Rosa et al. (2009) se domnívají, že toto může být následkem sníženého toku asimilovaných uhlíkatých sloučenin ze zdroje (listy) směrem do sinku a dále navrhují, že ve zpomalení těchto transportních procesů mohla hrát roli i restrikce toku floémové šťávy způsobená chladem jako takovým.

3.Odolnost quinoi vůči zasolení půdy

Zasolení je jedním z nejzávažnějších abiotických stresů, kterému rostliny při svém vývoji mohou čelit, a to hlavně díky jeho trvalému působení na rozdíl od nedostatku vody či působení mrazu, které mohou mít pouze dočasný charakter. Podle Shannona (1992) mohou reagovat různé rostliny na stres ze zasolení odlišnými způsoby, které v závislosti na náchylnosti rostliny mohou zahrnovat zpomalení růstu až jeho úplné zastavení. Další zvyšování koncentrace soli pak může vést až k viditelným nekrotickým místům na listech a k vadnutí či odumření celých rostlin. Mechanizmy, kterými sůl působí na rostlinu, dále Shannon (1992) rozděluje na osmotické, působící na rozhraní půdy a kořenů, a iontové, které jsou známy pro své negativní účinky uvnitř rostlinných buněk.

3.1. Charakterizace zasolených půd a desalinizační schopnost quinoi

V souvislosti se zasolením uvádějí Flowers et Flowers (2005), že přirozeně zasolené půdy pokrývají plochu o rozloze přibližně jedné miliardy hektarů a zahrnují hlavně pobřežní bažiny či vnitrozemské pouště, které nejsou ze zemědělského hlediska významné. Horší je však situace na uměle zavlažovaných zemědělských plochách, kde z celkové plochy zemědělsky využívané půdy o rozloze asi 299 milionů ha (data pro rok 2010) je celých 20 % zasaženo zasolením, což si žádá vývoj nových postupů při dalším nakládání s těmito půdami (Qadir et al., 2004; [ICID](#), 2015). Flowers et Flowers (2005) dále rozdělují zasolené půdy na dvě kategorie, a to: 1) půdy s vysokým obsahem Na^+ s přidruženou vysokou koncentrací CO_3^{2-} ; a 2) půdy, kde taktéž dominují kationty Na^+ , ale převažují zde anionty Cl^- a SO_4^{2-} . Obě dvě kategorie půd jsou nicméně dle autorů nevhodné pro pěstování většiny běžných druhů plodin právě díky svému vysokému obsahu rozpuštěných solí, které negativně působí na růst rostlin. Jedním z možných řešení desalinizace těchto půd by mohlo být využití halofytních druhů rostlin, které dokáží akumulovat do svých pletiv nezanedbatelné množství solných iontů, a tím přispívat k fytoremediaci zasažených půd (Shabala, 2003). Podle Bosque Saez et al. (2003) jsou zasolená půda a zvýšený příjem iontů u quinoi zodpovědné za vyšší růst, což jasně ukazuje na fakt, že quinoa patří mezi halofytní rostliny. Tento názor byl dále potvrzen studií Eisy et al. (2012) s rostlinami quinoi na zasoleném médiu, ve které bylo prokázáno, že růst quinoi je stimulován salinitou, přičemž nejlepší růst vykazovaly rostliny při kultivaci na 100 mM NaCl médiu. Rostliny quinoi mohou poskytnout tedy hned dvojnásobek užitek – kromě již zmíněné desalinizace půdy i produkci velmi hodnotných semen pro lidskou spotřebu.

3.2. Mechanizmy nakládání s ionty uvnitř pletiv

Prado et al. (2000) ve své studii s klíčením semen v roztocích NaCl pozorovali, že inhibice klíčení semen quinoi byla zpětně odstraněna jejich ponořením do destilované vody, a tudíž se lze domnívat, že zasolení nepůsobí na semena quinoi toxicky, nýbrž je pouze donutí vyčkat v klidovém stádiu na lepší iontové poměry v růstovém médiu.

Jsou známy odrůdy quinoi z jihoamerických altiplanos, které zde rostou na mimořádně zasolených půdách a přesto zde relativně prosperují (Sanchez et al., 2003 cit. Morales et al., 2003). Morales et al. (2012) uvádějí, že mechanismus, který rostlinám může sloužit ke zbavování se přebytečných solí, vyskytujících se v rostlinných pletivech nejčastěji v podobě disociovaných iontů Na^+ a K^+ , může zahrnovat jejich vyloučení skrze specializované žlázy. U quinoi konkrétně se jedná o uložení Na^+ do specializovaných měchýřků vzniklých přeměnou trichomů na povrchu epidermis svrchní i spodní strany listů, které se nazývají epidermální měchýřkové buňky (angl. Epidermal Bladder Cells; EBCs, viz obr. č. 3), a které tak představují dobrou možnost využití Na^+ iontů jako osmotik při jejich současném udržení dále od důležitých fyziologických dějů v mezofylových buňkách (Shabala, 2013; Shabala et al., 2012). Nakládání Na^+ do xylému se zdá být zcela klíčovou složkou mechanismů, kterými se halofytní rostliny vypořádávají se zasoleným médiem. Průměrné koncentrace Na^+ v xylémové šťávě halofytů se pohybují okolo 50 mM Na^+ , což dobře koresponduje s faktem, že halofyty využívají Na^+ jako osmotikum pro udržení turgoru uvnitř buněk, a tedy i k udržení růstu celého prýtu (Sahabala et Mackay, 2011). Balnokin et al. (2005) toto tvrzení dále podporují studií na několika druzích z čeledi Chenopodiaceae, jejíž výsledky ukázaly, že halofytní rostliny ukládají přijaté ionty Na^+ a K^+ hlavně v listech, kde posléze klesají hodnoty vodního potenciálu (Ψ_w), čímž si rostlina zajišťuje přísun vody ze zasoleného média.

3.2.1. Odlišnost v nakládání s ionty Na^+ a K^+

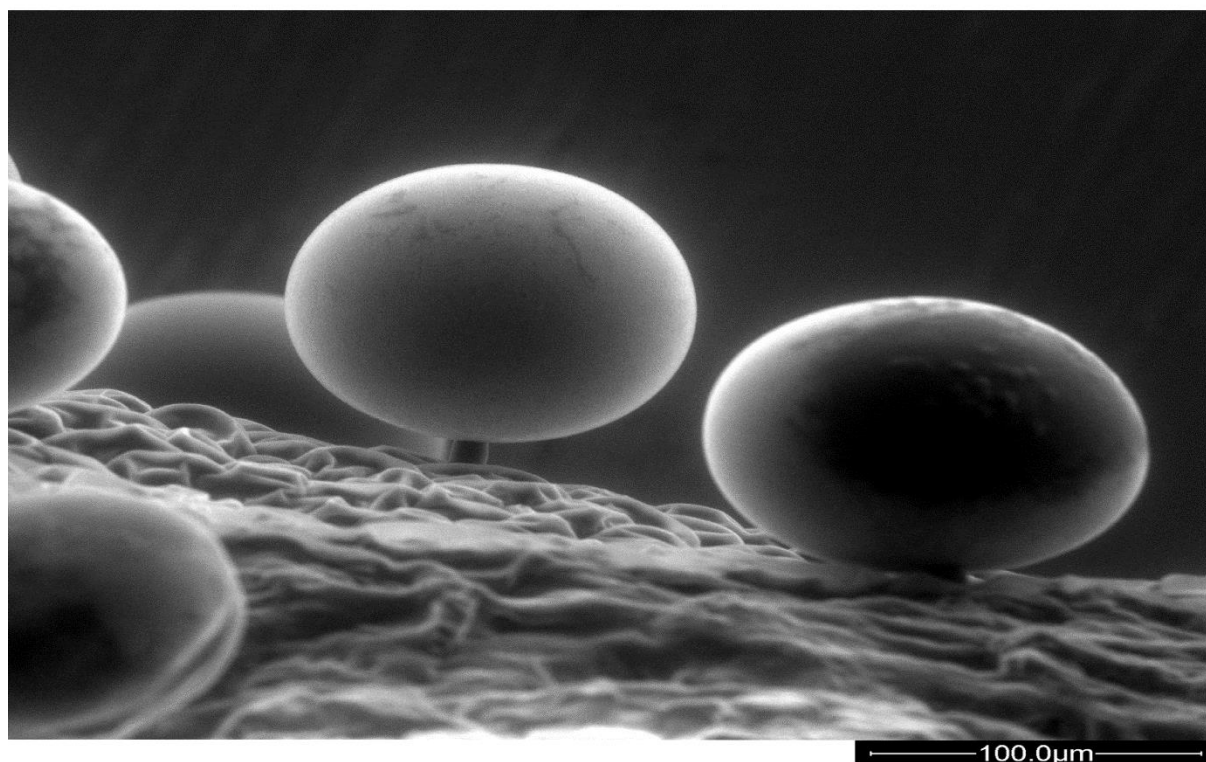
Hariadi et al. (2011) sledovali vztah akumulace anorganických iontů, konkrétně K^+ a Na^+ v pletivech listů quinoi při podmínkách zvyšujícího se zasolení půdy. Z výsledků vyplývá, že rostliny quinoi transportují přijaté ionty Na^+ ze zasoleného média společně s K^+ do buněk, čímž si zajišťují udržení turgoru uvnitř buněk, a tím osmotickou bilanci. V mladších listech však byly koncentrace iontů Na^+ a K^+ v jiných poměrech než v listech starších. Mladé listy akumulovaly více K^+ vůči Na^+ a zcela naopak tomu bylo v případě

starých listů, kde převládaly Na^+ . Toto by mohlo značit vyšší náchylnost nově se vyvíjejících listů k vyšším koncentracím Na^+ , což je v souladu s výsledky dalších autorů (Prado et al., 2000; Munns, 2002), kteří pozorovali, že další vývoj děložních lístků, hypokotylu a kořene byl na zasoleném médiu v porovnání s kontrolou potlačen. Role K^+ , jakožto hlavního iontu při osmotickém přizpůsobení buněk, byla navržena i v další studii sledující růst na zasoleném médiu, tentokrát však byly předmětem experimentu semenáče quinoi (Ruffino et al., 2010). Autoři této práce zjistili i zvyšující se hodnoty obsahu rozpustných sacharidů v děložních listech semenáčů. Nárůst obsahu glukózy si autoři vysvětlují jako následek hydrolýzy škrobu z perispermu v reakci na zasolení, a zřejmě tedy glukóza může fungovat jako osmolyt uvnitř buněk. Mimo glukózu se dále zvyšovala i koncentrace sacharózy, která je dobře známá pro své osmoprotektivní účinky, a mohla by tedy hrát významnou roli v časných fázích vývoje rostliny. Koncentrace fruktózy, dalšího z rozpustných sacharidů, však se zvyšující se koncentrací soli v médiu klesala, a zřejmě tedy nebude hrát u quinoi jako osmoprotektant významnější roli.

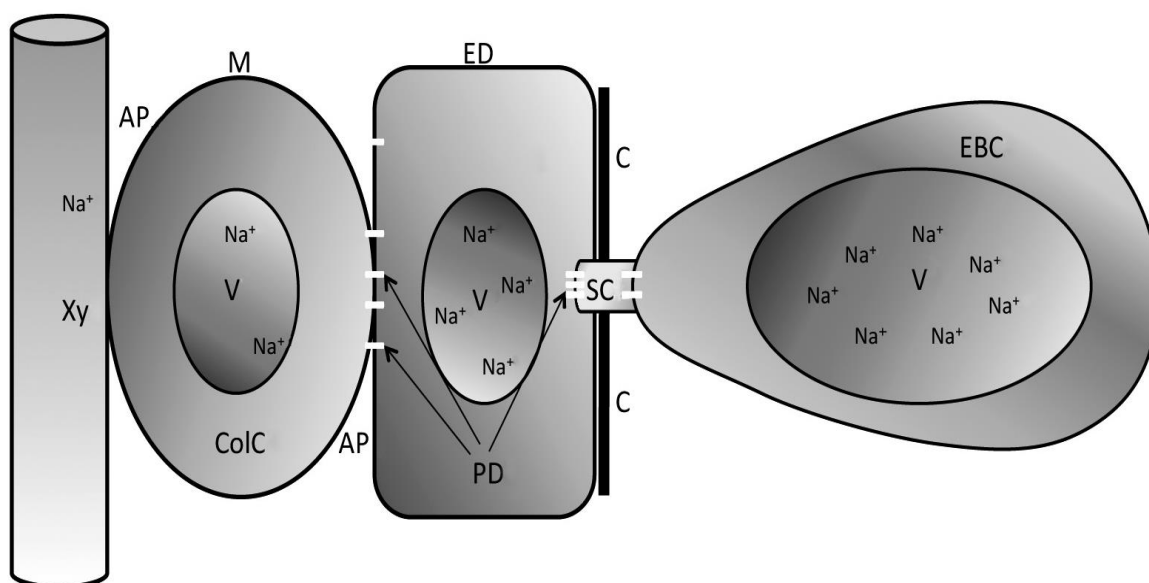
V souvislosti s nakládáním s ionty bylo ve studii Ruffina et al. (2010) dále zjištěno, že se zvyšujícím se zasolením média se zvyšovala koncentrace K^+ v buňkách prýtu, zatímco v kořenech, naopak docházelo k výtoku K^+ z buněk. Proto se autoři domnívají, že výtok K^+ z kořenů se stresem zasolením nespojuje a že se tedy jednalo o reakci na něco odlišného. Výtok H^+ z cytosolu kořenových buněk, který je zajišťován hlavně H^+ ATPázami, si autoři vysvětlují jako reakci buněk na zvýšené koncentrace Na^+ v cytosolu, a tím pádem potřebu repolarizace membrány.

V souvislosti s přizpůsobením rostlin je velice zajímavá odlišnost v akumulaci osmolytů v závislosti na stáří listu. Ve studii Shabaly et al. (2012) byla v souvislosti s přizpůsobením rostlin quinoi vůči zasolenému pěstebnímu médiu o hodnotě 400 mM NaCl pozorována odlišnost v hodnotách osmolality ve starých oproti mladým listům, s vyššími hodnotami osmolality zjištěnými u mladých listů. Zatímco u starých a středně starých listů docházelo v těchto podmínkách k osmotickému přizpůsobení hlavně akumulací iontů Na^+ , Cl^- a K^+ , u mladých listů tvořily nezanedbatelnou část osmolytů organické osmolyty, jejichž obsah vzrostl v porovnání s kontrolními rostlinami o více než 30 %. Autoři se domnívají, že zvýšené hodnoty organických osmolytů v mladých listech lze vysvětlit faktem, že jejich syntéza je daleko energeticky náročnější než sekvestrace iontů do vakuol, a jejich užití by tedy bylo neefektivní v dobře vakuolizovaných buňkách starších listů. V souvislosti s rozdílnými mechanismy akumulace osmolytů je zajímavá i studie Bonales-Alatorra et al. (2015), kteří zjistili u quinoi odlišný způsob akumulace Na^+ iontů v mladých a starých listech.

Zatímco mladé listy mohou akumulovat Na^+ do svých četných EBCs, staré listy mají EBCs už často zcela nefunkční a musí se tedy spoléhat téměř výhradně na sekvestraci a udržení Na^+ ve vakuolách buněk uvnitř pletiv listu. Protože koncentrace takto uložených Na^+ do vakuol je poté 4-5x vyšší vzhledem ke koncentraci cytosolární, a díky nulovému či slabě zápornému rozdílu v napětí mezi cytosolem a vakuolou, by byl posléze favorizován únik iontů skrze Na^+ propustné kanály zpět do cytosolu (Shabala et Mackay, 2011; Bonales-Alatorre et al., 2015). Z těchto kanálů jsou nejvýznamnější tzv. SV (slow vacuolar) a FV (fast vacuolar) kanály. Jak bylo prokázáno v předešlých pracích, SV kanály jsou propustné pro ionty Na^+ , K^+ , Mg^{2+} a Ca^{2+} a jsou aktivovány cytosolickými Ca^{2+} a pozitivním napětím ve vakuole (Ward et Schroeder, 1994; Pottosin et al., 2001). FV kanály jsou naproti tomu propustné pouze pro monovalentní ionty (K^+ , Na^+ ...) a jsou uzavírány zvýšenou koncentrací cytosolických Ca^{2+} a pozitivním či negativním potenciálem na tonoplastové membráně (Tikhonova et al., 1997).



Obr. č. 3: Mikrofotografie epidermálních solných měchýřků (angl. Epidermal Bladder Cells; EBCs) mladého listu *Ch. quinoa*. Obrázek byl získán použitím skenovacího elektronového mikroskopu. Zachycené EBCs jsou asi třetinové velikosti, než které mohou dosáhnout při jejich maximálním využití. Převzato z Shabala et Mackay (2011).



Obr. č. 4: Schéma EBC typické pro zástupce čeledí Chenopodiaceae, Oxalidaceae a Mesembryanthemaceae. Schéma neodpovídá skutečným velikostem, jelikož EBC mohou být až o řád větší než epidermální buňky.

Xy, xylém; AP, apoplast; M, mezofyl; ColC, sběrná buňka; V, vakuola; ED, epidermis; PD, plasmodesmata; SC, buňka stopky (angl. stalk cell); C, kutikula; EBC, epidermální měchýřková buňka. Převzato z Shabala et Mackay (2011).

3.2.2. Iontové transportéry a akvaporiny

V procesech osmotického přizpůsobení u quinoi hrají roli i iontové transportéry, jako například SOS1 (Salt Overly Sensitive 1), NHX1 (Na^+/H^+ exchanger 1) či TIP2 (Tonoplast Intrinsic Protein 2) (Prado et al., 2000; Morales et al., 2012). SOS1 funguje jako Na^+/H^+ antiporter na plasmatické membráně, čímž tedy reguluje koncentraci Na^+ v cytoplasmě jejich přesunem do apoplastu (Shi et al., 2000). NHX1 funguje na podobném principu, nežádoucí Na^+ však přemísťuje do vakuoly (Apse et al., 1999). Oba tyto transportéry jsou důležitými hráči v udržování nízké koncentrace Na^+ v cytosolu buněk, kde by vysoká koncentrace Na^+ či vyšší poměr $\text{Na}^+ : \text{K}^+$ narušoval funkci enzymů (Tester et Davenport, 2003).

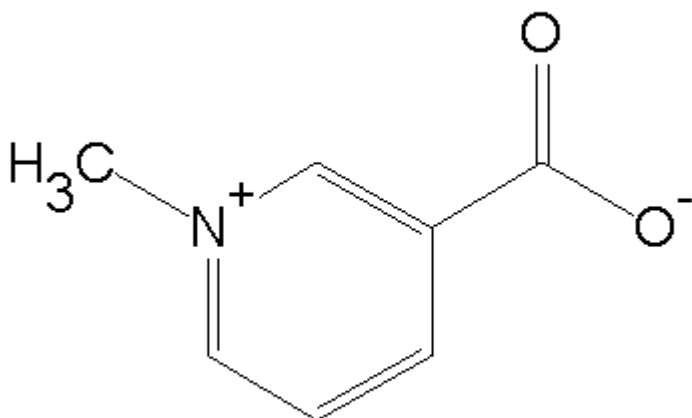
V souvislosti s těmito antiportéry jsou zajímavé výsledky studie Ruiz-Carasco et al. (2011), kteří analyzovali expresi genů pro tyto transportéry u rostlin quinoi kultivovaných na zasoleném médiu. Na médiu s 300 mM NaCl byla u testovaných rostlin zjištěna celkově zvýšená exprese genových homologů *CqSOS1A* a *CqSOS1B* v pletivech prýtlů, nikoliv však v kořenech. Toto pozorování je v souladu se zjištěním Maughna et al. (2009), kteří pozorovali u quinoi vystavené 450 mM NaCl signifikantní nárůst v exprese *CqSOS1* genů v prýtech,

nikoliv však v kořenech, které si zachovávaly konstitutivně vysokou expresi genů pro SOS 1 i při nestresových podmínkách. Tento jev by mohl být vysvětlen odlišným působením soli na kořenová a listová pletiva quinoi, přičemž v prvně jmenovaném pletivu jsou zřejmě *SOS1* geny exprimovány neustále a v druhém až po indukci vysokými koncentracemi Na^+ . Ruiz-Carasco et al. (2011) dále sledovali i expresi genu *CqNHX1* pro tonoplastový transportér Na^+ iontů a zjistili zvýšenou expresi genů pro tento transportér v listových pletivech všech testovaných genotypů kromě jednoho náchylného genotypu pocházejícího z méně nepříznivých oblastí. V kořenových pletivech však byla situace jiná, protože jeden z tolerantních genotypů vykazoval nárůst v expresi *CqNHX1*, zatímco u druhého tolerantního genotypu takovéto chování pozorováno nebylo, a zřejmě tedy souvisí s odlišným mechanismem příjmu a nakládání s přijatými Na^+ .

TIP2 a PIP tvoří rodiny akvaporinů, zodpovědných za udržování vodních poměrů uvnitř buněk. Boursiac et al. (2005) uvádějí, že v souvislosti s reakcí na zasolení se u často pro pokusy používané rostliny, typicky glykofytní *Arabidopsis thaliana*, množství akvaporinů TIP2 (Tonoplast Intrinsic Protein) a PIP (Plasma Membrane Intrinsic Protein) v kořeni snižovalo už po dvou hodinách vystavení 100 mM NaCl. Tento fakt vedl k snížené hydraulické vodivosti kořene, což autoři označují jako jeden z prvních mechanismů zapojovaných v reakci na stres ze zasolení.

3.3. Kompatibilní soluty

Možností, jak se vyhnout osmotické disbalanci v důsledku přílišné akumulace iontů v rostlinných pletivech, je dále i mechanismus akumulace kompatibilních solutů v cytoplazmě (Morales et al., 2011). Z výsledků studie je patrné, že se u quinoi v reakci na zasolení půdy zvyšovaly koncentrace betainu, trehalózy a trigonelinu, přičemž posledně jmenovaný se objevoval v koncentracích zdaleka nejvyšších, a proto zřejmě bude hrát hlavní roli ve vyrovnávání osmotického potenciálu rostliny ve vztahu k zasolené půdě (Morales et al., 2012). Trigonelin (viz obr. č. 5) patří mezi alkaloidy, sekundární metabolity, známé spíše pro své repelentní vlastnosti.



Obr. č. 5: Trigonelin. Převzato z <http://www.rdchemicals.com/molimg/big/8302.gif>.

Koncentrace betainu v nadzemních částech rostlin nebyly natolik vysoké, aby mohly hrát významnou roli při osmotickém přizpůsobení. Morales et al. (2011) však navrhuji, že nízké koncentrace betainu by mohly být vysvětleny jeho využitím při syntéze trigonelinu. V kontrastu k obsahu betainu v nadzemních částech bylo v této studii zjištěno, že v kořenech probíhala zvýšená exprese genu kódujícího enzymu BADH (betainaldehyd-dehydrogenáza) a dále exprese genů transportérů SOS. Hlavně zvýšená exprese genu pro BADH vede k domněnce, že betain a hlavně jeho derivát glycin-betain hrají významnou roli při obraně proti solnému stresu v kořenech. Toto zjištění však nebylo podpořeno pro listová pletiva, jak ukázaly výsledky studie Ruffina et al. (2010) na semenáčcích quinoi pěstovaných na zasoleném médiu. Zjištěné hodnoty glycinbetainu v děložních lístcích ve srovnání s hodnotami prolinu dosahovaly v této studii ještě nižších hodnot, a proto se autoři domnívají, že hraje pouze zanedbatelnou roli jakožto kompatibilní solut v nadzemních částech rostlin quinoi. Trehalóza, další z široce rostlinami využívaných kompatibilních solutů, byla ve studii Moralese et al. (2011) taktéž sledována, nicméně její koncentrace v pletivech quinoi byly ještě nižší, než koncentrace betainu, což vede k domněnce, že u quinoi zřejmě nehraje zásadnější roli při osmotickém přizpůsobení. Další kompatibilní soluty jako pinitol a sorbitol zde byly naměřeny jen v nevýznamných koncentracích. V souvislosti s akumulací kompatibilních solutů byla zjištěna Rosou et al. (2009) zvýšená akumulace prolinu v dělohách solí stresovaných semenáčů quinoi. Autoři uvádějí, že nejnižší hodnoty obsahu škrobu a zároveň

nevyšší hodnoty prolinu naměřené u těchto semenáčů lze vysvětlit změnou alokace asimilátů do syntézy prolinu pro potřeby ochrany před solným stresem.

3.4. Polyaminy

Mimo kompatibilních solutů se v reakci na stres ze zasolení zdá důležitá i role polyaminů. Polyaminy patří mezi nízkomolekulární organické kationty, které byly nalezeny v široké škále organismů od bakterií, živočichů až po rostliny (Alcázar et al., 2006). Díky svému pozitivnímu náboji se mohou tyto kationty vázat na záporně nabitě makromolekuly jako například DNA, RNA, proteiny, membránové fosfolipidy či složky buněčné stěny, a ovlivňovat tak jejich stabilitu a funkce (Kusano et al., 2008; Ruiz-Carasco et al., 2011). Mezi hlavní polyaminy sledované při stresových podmínkách patří putrescin (PUT), spermidin (SPD) a spermin (SPM). Carasco et al. (2011) ve svém experimentu zjistili, že při aplikaci 300 mM NaCl u testovaných rostlin quinoi ostře klesla koncentrace PUT, nikoliv však koncentrace SPD a SPM, což by dle autorů mohlo značit významnou roli SPD a SPM při důležitých fyziologických procesech.

3.5. Organické osmolyty

ROS (Reactive Oxygen Species), mezi které patří například singletový kyslík ($^1\text{O}_2$), hydroxylový radikál (HO^\bullet), peroxid vodíku (H_2O_2) a superoxidový radikál ($\text{O}_2^{\bullet-}$), jsou částice vznikající v reakci rostliny na stres způsobený různými abiotickými podněty (Miller et al., 2008). Shabala et al. (2012) v experimentu zjišťujícím poškození listů jejich vystavením UV-B záření, způsobujícím produkci ROS, zjistili, že poškození mladých listů v porovnání se starými bylo daleko menší a připisují tento rozdíl vyšší akumulaci organických osmolytů v mladých listech. Toto zjištění pozitivně korelovalo s dalším pokusem, kdy byly listy quinoi před vystavením UV-B záření ošetřeny glycínbetainem, přičemž čím vyšší dávky glycínbetainu byly použity, tím menší bylo oxidativní poškození fotosystému II (PSII). Proto se autoři domnívají, že u quinoi hraje akumulace organických osmolytů hned dvojí roli - mimo tu vedoucí k osmotickému přizpůsobení i ochrannou roli proti oxidativnímu stresu ve vyvíjejícím se fotosyntetickém aparátu mladých listů. V posledním pokusu se autoři zaměřili na hustotu průduchů na listech rostlin rostoucích na solném médiu o hodnotě 400mM NaCl. Výsledky ukázaly, že na všech listech nezávisle na jejich stáří bylo možno pozorovat snížený počet stomat až o 30 %, což ve výsledku vede u quinoi k lepší účinnosti využití vody WUE

(Water Use Efficiency), neboť snížený počet průduchů vede mimo přímého efektu na výdej vody i ke snížení pasivní kutikulární transpirace okolo svěracích buněk. Fakt, že si quinoa dokáže vyvinout menší počet lépe kontrolovaných průduchů, by mohl být dle autorů důležitou adaptivní vlastností quinoi, kterou zlepšuje své hospodaření s vodou (Shabala et al., 2012).

3.6. Porovnání s modelovým halofytem

V experimentu porovnávajícím dva kultivary quinoi s modelovou halofytní rostlinou *Thellungiella halophila* Morales (2012) zjistil negativní reakce obou druhů rostlin vůči zvyšující se koncentraci NaCl v pěstebním médiu. Přírůstek čerstvé hmotnosti testovaných rostlin však klesal u *T. halophila* daleko výrazněji při zvyšující se koncentraci NaCl, což naznačuje, že ani typicky halofytní *T. halophila* zřejmě nedisponuje některými z unikátních mechanismů vlastních rostlinám quinoi. U rostlin quinoi vystavených nejvyšším koncentracím soli (600 mM NaCl, což se zhruba blíží salinitě mořské vody) se projevovaly chlorotické skvrny na listech, nicméně rostliny byly schopny přežít na pěstebním médiu téměř 4 týdny. Protože byly tyto rostliny po přenesení do standardních podmínek schopny plně obnovit růst, vykvést a zaplodit, domnívají se autoři, že je quinoa schopna vstoupit při podmínkách extrémního zasolení do dormantního stavu.

4. Odolnost quinoi vůči suchu

Nedostatek půdní vody je jedním z dalších abiotických faktorů, s kterým se umějí rostliny quinoi díky svým přirozeným adaptacím vyrovnat. Stres ze sucha je způsoben nedostatečným přísunem vody do rostlinných pletiv, především těch nadzemních, aktivně transpirujících. Tento nedostatek vody následně ovlivňuje četné fyziologické pochody v rostlině, jako například růst rostliny, stomatální vodivost, fotosyntézu či hodnotu Ψ_w rostliny.

4.1. Strukturní přizpůsobení nedostatku vody

Podle Suna et al. (2013) je quinoa schopná zapojit širokou škálu mechanismů v reakci na stres způsobený suchem, mezi které patří například rychlejší vegetační růst a dospívání rostlin. Zajímavým přizpůsobením pro příjem i minimálního množství dostupné vody se zdá být změna v morfologii kořenů quinoi. Jak demonstrovali ve své práci Martínéz et al. (2009),

rostliny vystavené suchu rychle zastavily růst hlavního kořene, a místo toho vytvářely dlouhé horizontální kořeny uložené velmi mělce pod úrovní půdy tak, aby mohly využít i vodu pocházející z ranní rosy a mlh. Bosque Sanchez et al. (2003) ve své studii ukázali, že sucho a vysoká salinita způsobují u quinoi snížení transpiračních hodnot zvýšením stomatálního odporu (r_s), což ve výsledku vede k udržení lepších vodních poměrů v rostlině a přežití extrémních stresových podmínek. V souvislosti s adaptacemi na sucho zmiňují Bosque Sanchez et al. (2003) i EBCs (viz kapitola 3.2.), které kromě role v uskladnění přebytečných solí mohou sloužit i jako zásobárny vody a zvyšují tedy schopnost retence vody v rostlině.

4.2. Fyziologická přizpůsobení k udržení vodních poměrů

Podobně jako u osmotického přizpůsobení zasoleným půdám akumulací Na^+ , K^+ a Cl^- v buňkách rostlinných pletiv se quinoa vyrovnává i se stresem způsobeným suchem. Jak stres ze zasolení, tak stres ze sucha totiž působí pro rostlinu stejný fyziologický problém, a to nedostupnost vody pro rostlinu způsobenou osmotickými jevy. Sun et al. (2013) ve svém pokusu s quinoou vystavenou podmínkám sucha porovnávali dva kultivary: jedním byl kultivar Achachino, původem z Bolívie z oblastí vysočin, a druhým kultivar Titicaca, který byl vyšlechtěn v Dánsku. Kultivar Achachino byl celkově vyhodnocen jako odolnější vůči suchu. Po vystavení suchu kultivar Titicaca vykazoval asi 15% redukci celkové listové plochy, zatímco Achachino pouze 7,5%, což je podle Suna et al. (2013) významným ukazatelem odolnosti, neboť v řadě studií na jiných plodinách bylo prokázáno, že nárůst listové plochy je jedním z nejcitlivějších faktorů ve vztahu k nedostatku vody (Anjum et al., 2011). Klíčovými faktory pro úspěšnost kultivaru Achachino by mohly být podle autorů jeho nižší růstová rychlost, nižší stomatální vodivost stejně jako tvorba menší listové plochy. Tyto, za optimálních podmínek nežádoucí vlastnosti, jsou za podmínek sucha velmi výhodné a působí ve prospěch udržení lepších vodních poměrů v pletivech kultivaru Achachino v porovnání s kultivarem Titicaca. Kyselina abcisová (ABA) je fytohormon, který mimo jiné hraje roli i při uzavírání průduchů (Schachtman et Goodger, 2008). Nárůst koncentrace ABA ve studii Suna et al. (2013) byl výrazný hlavně u kultivaru Titicaca, který brzy reagoval na stres ze sucha nárůstem obsahu ABA v xylémové šťávě, což zřejmě potvrzuje předchozí domněnku, že Achachino je přirozeně fyziologicky nastaven na nižší hodnoty stomatální vodivosti vedoucí k celkově nižší asimilaci a nárůstu nadzemní biomasy, a tudíž ji nepotřeboval korigovat v tak velké míře. Navíc byl zjištěn i vyšší poměr iontů K^+/Na^+ u kultivaru Achachino ve srovnání s kultivarem Titicaca, což je v souladu s domněnkou Shabaly

et Cuina (2008), že tyto poměry hrají důležitou roli v toleranci zasolení. Fakt, že ekotypy quinoi pocházející z tzv. altiplanos (nadmořské výšky kolem 4000 m n. m.) jsou v porovnání s kultivary z údolí (kolem 2000 m n.m.) odolnější vůči suchu byl pozorován i ve studii Raney et al. (2014). Autoři porovnávali odrůdu Ollague původem z altiplana s odrůdou Ingapirca pocházející z údolí při rozdílných hodnotách polní vodní kapacity (zkr. PVK) o hodnotách 100 %, 50 %, 30 % a 10 %, přičemž 100 % PVK vyjadřuje maximální objem vody, kterou je půda po zavlažení schopna udržet v téměř rovnovážném stavu proti působení gravitační síly. Při vysokém vodním stresu (10 % PVK), byl u odrůdy Igapirca pozorován pokles v hodnotě fotosyntézy ($5,5 \mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$) a ve stomatální vodivosti ($0,031 \mu\text{mol H}_2\text{O m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$) v porovnání s odrůdou Ollaque ($9,4 \mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$; $0,081 \mu\text{mol H}_2\text{O m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$). Jedním z dalších mechanismů, kterým se rostliny quinoi brání stresu ze sucha je bezpochyby i snížení vodního potenciálu v rostlině, jak bylo ukázáno ve studii Vachera (1998) s odrůdami quinoi z altiplana, u kterých za podmínek sucha naměřil hodnoty Ψ_w okolo -4 MPa. Toto zjištění se poměrně dobře shoduje s daty získanými Raneyem et al. (2014), kteří u odrůdy Ollague naměřili za podmínek sucha vodní potenciál stonku o hodnotě -2.97 MPa, přičemž u odrůdy Ingapirca dosahovala tato hodnota pouze -1.95 MPa. Vzhledem k faktu, že ekotypy původem z altiplana dosahují v dospělosti výšky asi 1 – 1.8 m, přičemž kultivary z údolí 2 – 4m (Tapia, 1980 cit. Raneyem et al., 2014), mohla celková nižší růstová hodnota odrůd z altiplana představovat mechanismus, který jim umožňuje tolerovat velmi nízký úhrn srážek, který je na přirozených stanovištích obvykle menší než 200 mm za rok (Raney et al., 2014).

V návaznosti na působení ABA jsou zajímavé i výsledky Burriezy et al.(2011), kteří se ve své práci zaměřili na akumulaci dehydrinů u kultivaru Hualhuas, který je vysoce tolerantní vůči zasolení. Dehydriny patří do skupiny LEA (Late Embryogenesis Abundant) či tzv. RAB proteinů (Responsive to ABA) a jsou známy pro svou akumulaci nejen v dozrávajících semenech, ale taktéž i specificky v reakci na stresové podmínky (Rorat, 2006). Všechny dehydriny pak obsahují tzv. K-segment (Rorat, 2006) - konzervovanou, na lysin bohatou doménu, složenou celkově z 15 aminokyselin. Z několika skupin dehydrinů, odlišujících se od sebe počtem a umístěním různých segmentů jsou zajímavé hlavně ty dehydriny, které ve své struktuře obsahují tzv. S-segment, který má fosforylovatelnou doménu. Toto by mohlo ukazovat na možné využití těchto dehydrinů v regulaci transportu proteinů do jádra, neboť tyto se mohou ve fosforylovaném stavu vázat na NLS (Nuclear Localization Signal) jiných proteinů a ovlivňovat tak jejich transport z cytoplazmy do jádra (Goday et al., 1994; Jensen et al., 1998). Burrieza et al. (2011) ve svém experimentu vystavili rostliny podmínkám zasoleného pěstebního média o třech odlišných koncentracích soli, a to 100, 300 a 500 mM

NaCl. Analýzou proteinové frakce autoři zjistili přítomnost 4 odlišných druhů dehydrinů o molekulárních hmotnostech 55, 50, 34 a 30 kDa. Dehydriny o molekulárních hmotnostech 55 a 50 kDa byly exprimovány ve stejné míře jak u nezasolené kontroly, tak i u všech variant ošetřených solí, a jedná se tedy zřejmě o konstitutivně produkované dehydriny. Pro koncentrace 0 a 100 mM NaCl nebyl zjištěn signifikantní nárůst pro 30 kDa frakci dehydrinů. Jiná situace nastala při ošetření 300 a 500 mM NaCl, kdy byl zjištěn až 50% nárůst v 30 kDa frakci. Tento fakt si autoři vysvětlují jako reakci na stres ze zasolení. Burrieza et al. (2011) dále imunohistochemickými metodami zjistili, že pletiva embryí pěstovaných na vysoce zasoleném médiu vykazovala akumulaci dehydrinů v jádře, konkrétně v těsném spojení s chromatinem. Extrahované dehydriny z embryí byly poté podrobeny působení AP (angl. Alkaline Phosphatase) a bylo zjištěno, že dehydrin o molekulární hmotnosti 30 kDa změnil svoji hmotnost na 28 kDa, což by mohlo být v souladu s poznatky Jensena et al. (1998) vysvětleno tím, že ve fosforylované formě jsou tyto dehydriny určeny pro kotransport s proteiny vázajícími NLS do jádra. Buriezza et al. (2011) tedy shrnují, že zvýšená salinita spouští u quinoi na ABA závislou reakci, která v konečném důsledku vede k akumulaci 30 kDa dehydrinu v jádře, kde chrání DNA při dehydrataci buněk.

Další organickou složkou, kterou zřejmě quinoa využívá při čelení nepříznivým abiotickým podmínkám, zvláště pak suchu, bude zřejmě i akumulace prolinu, který dle Aguilara et al. (2003) přispívá u rostlin k osmotickému přizpůsobení, ochraně membrán, regulaci pH v cytoplasmě a může sloužit i jako rezervoár dusíku. Aguilar et al. (2003) ve své studii zjišťovali obsah prolinu u odrůd quinoi pocházejících z různých oblastí, které se od sebe liší klimatem. Výsledky ukázaly, že rostliny quinoi akumulovaly větší množství prolinu v chladném a suchém klimatu (Alto Cacha), kde mimo sucha byly rostliny vystavené i mrazu, než na druhé lokalitě (Muyapampa), která je příznivě ovlivněná blízkostí jezera Titicaca. Co se týče odrůdových odlišností, odrůdy Wariponcho a CRIDER2 původem se suchých a chladných oblastí významně převyšovaly ostatní odrůdy v akumulaci prolinu, což podle autorů svědčí o jejich přizpůsobení vůči nepříznivým klimatickým podmínkám.

5. Další faktory ovlivňující pěstování quinoi

5.1. Požadavek na délku fotoperiody

Při zavádění pěstování quinoi mimo její přirozené oblasti výskytu, konkrétně do oblastí s vyšší zeměpisnou šířkou, zřejmě bude nutné zohlednit i adaptaci kultivarů na délku fotoperiody. Bendevis et al. (2013) ve své studii sledovali schopnost kultivarů quinoi (jmenovitě kultivarů Achachino a Titicaca) k adaptaci na odlišné fotoperiody, než na které jsou tyto dva kultivary přirozeně zvyklé. Achachino je krátkodenním kultivarem quinoi, zatímco Titicaca je vůči délce dne neutrální. Oba kultivary byly vystaveny několika typům světelných režimů - dlouhodobní fotoperiodě, trvající 17,5 h, krátkodenní fotoperiodě o délce 10 h, a fotoperiodám, které byly během experimentu změněny z dlouhé na krátkodenní a z krátké na dlouhodobní. Z výsledků je patrné, že nezávisle na kultivaru, rostliny reagovaly na prodlouženou fotoperiodu nárůstem obsahu kyseliny abcisové (ABA) a rozpustných sacharidů. Nicméně hodnoty ABA u kultivaru Titicaca byly výrazně vyšší a pouze kultivar Titicaca byl schopen za podmínek prodlužující se fotoperiody vytvořit životaschopná semena. Achachino se s vystavením podmínkám dlouhého dne nedokázal vyrovnat, což se dále projevovalo prodlužováním stonku a pokračujícím kvetením bez vyvinutí životaschopných semen a růstem nových vegetačních vrcholů z laty. Chlorózu nižších pater listů, která se u rostlin kultivaru Titicaca vyskytovala při vystavení dlouhodobním fotoperiodám je možno připsat adaptivním změnám, které zahrnují i redistribuci uhlíku a dusíku v reakci na zvýšené hodnoty ABA a rozpustných sacharidů (Bendevis et al., 2013). Zdá se tedy, že pěstování quinoi ve vyšších zeměpisných šířkách, kde jsou v letních měsících značně dlouhé fotoperiody, bude vyžadovat použití kultivarů, jako je již výše zmíněný kultivar Titicaca, a tím předcházet ztrátám při sklizni.

5.2. Citlivost k houbovému patogenu

Co se týče biotických stresů, nejvýznamnějším patogenem napadajícím quinou je bezesporu peronospora [*Peronospora farinosa* Fr. f. sp. *chenopodii* Byford]. Typickými příznaky přítomnosti tohoto patogena na rostlinách jsou chlorotické skvrny na svrchní straně listů, doprovázené masou šedivých spor viditelných na spodní straně listů (Mhada et al., 2015). Hlavním negativním působením tohoto patogena na rostliny quinoi je tedy právě destrukce aktivní asimilační plochy, která je spojena s opadem listů a následně i ztrátami při sklizni (Danielsen et al., 1999). Jak bylo ukázáno v polním experimentu Danielsena et Munka

(2004) na dvou lokalitách v Peru s lišícími se klimatickými podmínkami, napadení quinoi peronosporou bylo vyšší na chladnější lokalitě s vysokou vlhkostí vzduchu (Huancayo, 3200 m n. m.) ve srovnání se suchou příbřežní oblastí (Lima). Zajímavé bylo také zjištění, že v porovnání časných a pozdních odrůd quinoi byly zjištěny větší ztráty díky napadení patogenem pro časně zrající kultivary v porovnání s těmi pozdními, přičemž extrémním případem byl raný kultivar Utusaya původem z pouštních oblastí Bolívie, u kterého ztráty při sklizni dosahovaly až 99 %. Hlavní příčinou větší odolnosti pozdních kultivarů quinoi spatřují Danielsen et Munk (2004) hlavně ve schopnosti rychlého nahrazení ztracené listové plochy novým růstem listů. Nicméně i u nejodolnějších kultivarů činily ztráty při sklizni mezi 33 % - 58 %, což jasně ukazuje na významný negativní vliv tohoto patogena na kultivaci quinoi a nutnost použití odolných kultivarů při pěstování v podmínkách s vyššími srážkami.

6. Závěr

Quinoa je se svými výjimečnými fyziologickými adaptacemi vůči abiotickým stresům bezpochyby plodinou, jejíž význam bude narůstat spolu s očekávanými změnami klimatu, spojenými s takovými jevy jako jsou například nerovnoměrné rozložení srážek, fluktuace teplot či zasolení půdy v důsledku umělého zavlažování. Zdá se, že velkou roli v míře, ve které jsou schopny odlišné ekotypy quinoi přizpůsobit se abiotickým stresům, hraje právě jejich původ. Díky omezeným možnostem výměny semen mezi původními pěstiteli quinoi v oblastech okolo Andského pohoří se v závislosti na tamějších lokálních, specifických podmínkách vyvinulo značné množství odlišných genotypů, které jsou do velké míry specializované na místní podmínky a při kultivaci v odlišných podmínkách může být jejich kultivace ztížená. Na druhou stranu, tato variabilita ve vlastnostech může být dobře využita ve šlechtitelství při selekci kultivarů pro zlepšení výnosů jak v místech původního rozšíření, tak i ve zbytku světa, přičemž úspěšné kultivace v Severní Americe, Africe, Evropě či Asii jsou dokladem rostoucího zájmu o tuto hodnotnou a v porovnání s běžně pěstovanými plodinami nenáročnou „superplodinu“. Poměrně málo je u quinoi prozkoumané genetické pozadí stojící za mechanismy odolnosti vůči stresům, které by si s ohledem na možné využití ve zlepšování odolnosti jiných plodin zasloužilo větší pozornost.

7. Seznam použité literatury

Ahamed, T., Singhal, R., Kulkarni, P., Pal, M. 1998: A lesser-known grain, *Chenopodium quinoa*: review of the chemical composition of its edible parts. Food & Nutrition Bulletin 19:61-70.

Anjum, S. A., Xie, X., L Wang, L., Saleem, M. F., Man C., Lei W. 2011: Morphological, physiological and biochemical responses of plants to drought stress. African Journal of Agricultural Research 6:2026-2032.

Alcazar, R., Marco, F., Cuevas, J. C., Patron, M., Ferrando, A., Carrasco, P., Tiburcio, A., Altabella, T., 2006: Involvement of polyamines in plant response to abiotic stress. Biotechnology Letters 28:1867-1876.

Apse, M. P., Aharon, G. S., Snedden, W. A., Blumwald E. 1999: Salt tolerance conferred by overexpression of a vacuolar Na⁺/H⁺ antiport in *Arabidopsis*. Science 285:1256-1258.

Ballicora, M. A., Iglesias, A. A., Preiss, J. 2004: ADP-glucose pyrophosphorylase: a regulatory enzyme for plant starch synthesis. Photosynthesis Research 79:1-24.

Bendevis, M. A., Sun, Y., Shabala, S., Rosenqvist, E., Liu, F., Jacobsen, S. E. 2013: Differentiation of photoperiod induced ABA and soluble sugar responses of two quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) cultivars. Journal of Plant Growth Regulation 33:562-570.

Bhargava, A., Shukla, S., Ohri, D. 2006: *Chenopodium quinoa*—An Indian perspective. Industrial Crops and Products 23:73–87.

Bosque Sanchez, H., Lemeur, R., Van Damme, P. & Jacobsen, S.- E. 2003: Ecophysiological analysis of drought and salinity stress of quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.). Food Reviews International 19:111-119.

Boursiac, Y., Chen, S., Luu, D. T., Sorieul, M., Van Den Dries N., Maurel, C. 2005: Early Effects of Salinity on Water Transport in Arabidopsis Roots. Molecular and Cellular Features of Aquaporin Expression. *Plant Physiology* 139:790-805.

***Canahua, A., Rea, J., 1979:** Quinuas resistentes a heladas. In: Actas del II Congreso Internacional de Cultivos Andinos, Riobamba, Ecuador, 4–8 June, Escuela Superior Politécnica de Chimborazo pp. 143–150.

Danielsen, S., Jacobsen, S. E., Echegaray, J., Ames, T. 2001: Impact of downy mildew on the yield of quinoa. Scientist and farmer: partners in the 21. century : CIP program report 1999-2000 2001:397-401.

Danielsen S., Munk L., 2004: Evaluation of disease assessment methods in quinoa for their ability to predict yield loss caused by downy mildew. *Crop Protection* 23:219-228.

Eisa, S., Hussin, S., Geißler, N., Koyro, H. W. 2012: Effect of NaCl salinity on water relations, photosynthesis and chemical composition of Quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) as a potential cash crop halophyte. *Australian Journal of Crop Science* 6:357-368.

Flowers, T. J., Flowers, S. A. 2005: Why does salinity pose such a difficult problem for plant breeders? *Agricultural Water Management* 78:15-24.

Fuentes, F. F., Bazile, D., Bhargava, A., Martínez, E. A. 2012: Implications of farmers' seed exchanges for on-farm conservation of quinoa, as revealed by its genetic diversity in Chile. *The Journal of Agricultural Science* 150:702–716.

Goday, A., Jensen, A. B., Culianez-Macia, F. A., Alba, M. M., Figueras, M., Serratos, J., Torrent, M., Pagés, M. 1994: The maize abscisic acid-responsive protein Rab17 is located in the nucleus and interacts with nuclear localization signals. *The Plant Cell* 6:351–360.

Hariadi, Y., Marandon, K., Tian, Y., Jacobsen, S. E., Shabala, S. 2011: Ionic and osmotic relations in quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) plants grown at various salinity levels. *Journal of Experimental Botany* 62:185-193.

ICID 2015: International Commission on Irrigation and Drainage (ICID) [online]. [Cit. 2015-07-30]. Dostupné z: http://www.icid.org/imp_data.pdf

Jacobsen, S. E., Monteros, C., Christiansen, J. L., Bravo, L. A., Corcuera, L. J., Mujica, A. 2005: Plant responses of quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) to frost at various phenological stages. *European Journal of Agronomy* 22:131-139.

Jacobsen, S. E., Monteros, C., Corcuera, L. J., Bravo, L. A., Christiansen, J. L., Mujica, A. 2007: Frost resistance mechanisms in quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.). *European Journal of Agronomy* 26:471-475.

Jensen, A. B., Goday, A., Figueras, M., Jessop, A. C., Pagés, M. 1998: Phosphorylation mediates the nuclear targeting of the maize RAB17 protein. *The Plant Journal* 13:691-697.

Kusano, T., Berberich, T., Tateda, C., Takahashi, Y. 2008: Polyamines: essential factors for growth and survival. *Planta* 228:367-381.

Mhada, M., Ezzahiri, B., Benlhabib, O. 2015: Assessment of Downy mildew Resistance (*Peronospora farinosa*) in a Quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd) Germplasm. *International Journal of Biological & Medical Research* 6:4748-4752

Martínez, E. A., Veas, E., Jorquera, C., San Martín, R., Jara, P. 2009: Re-Introduction of Quínoa into arid Chile: Cultivation of Two Lowland Races under Extremely Low Irrigation. *Journal of Agronomy and Crop Science* 195:1-10.

Maughan, P. J., Turner, T. B., Coleman, C. E., Elzinga, D. B., Jellen, E. N., Morales, J. A., Udall, J. A., Fairbanks, D., Bonifacio, A. 2009: Characterization of Salt Overly Sensitive (*SOS1*) gene homoeologs in quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd). *Genome* 52:647-657.

Miller, G., Shulaev, V., Mittler, R. 2008: Reactive oxygen signaling and abiotic stress. *Physiologia Plantarum* 133:481-489.

Morales, A. J., Bajgain, P., Garver, Z., Peter, J., Maughan, P. J., Udall, J. A. 2011: Physiological responses of *Chenopodium quinoa* to salt stress. *International Journal of Plant Physiology and Biochemistry* 3:219-232.

Munns, R. 2002: Comparative physiology of salt and water stress. *Plant, Cell and Environment* 25:239–250.

Pottosin, I. I., Dobrovinskaya, O. R., Muñiz, J. 2001: Conduction of Monovalent and Divalent Cations in the Slow Vacuolar Channel. *The Journal of Membrane Biology* 181:55–65.

Prado, F. E., Boero, C., Gallardo, M., González, J. A. 2000: Effect of NaCl on germination, growth, and soluble sugar content in *Chenopodium quinoa* Willd. seeds. *Botanical Bulletin of Academia Sinica* 41:27–34.

Przybylski, R., Chauhan, G. S., Eskin, N. A. M. 1994: Characterization of quinoa (*Chenopodium quinoa*) lipids. *Food Chemistry* 51:187-192.

Qadir, M., Oster, J. D. 2004: Crop and irrigation management strategies for saline-sodic soils and water aimed at environmentally sustainable agriculture. *Science of The Total Environment* 323:1–19.

Ranhotra, G. S., Gelroth, J. A., Glaser, B. K., Lorenz, K. J., Johnson, D. L. 1993: Composition and Protein Nutritional Quality of Quinoa. *Cereal Chemistry* 70:303–305.

Raney, J. A., Reynolds, D.J., Elzinga, D. B., Page, J., Udall, J. A. , Jellen, E. N., Bonfacio, A., Fairbanks, D.J., Maughan, P. J. 2014: Transcriptome Analysis of Drought Induced Stress in *Chenopodium quinoa*. *American Journal of Plant Sciences* 5:338–357

Repo-Carrasco, R., Espinoza, C., Jacobsen, S.E. 2003: Nutritional Value and Use of the Andean Crops Quinoa (*Chenopodium quinoa*) and Kañiwa (*Chenopodium pallidicaule*). *Food Reviews International* 19:179–189.

Repo-Carrasco-Valnecia, R., Hellström, J. K., Pihlava, J. M., Mattila, P. H. 2010: Flavonoids and other phenolic compounds in Andean indigenous grains: Quinoa (*Chenopodium quinoa*), kañiwa (*Chenopodium pallicaule*) and kiwicha (*Amaranthus caudatus*). *Food Chemistry* 120:128-133.

Rorat, T. 2006: Plant dehydrins — Tissue location, structure and function. *Cellular & Molecular Biology Letters* 11:536–556

Ruffino, A. M. C., Rosa, M., Hilal, M., González, J.A., Prado, F.E. 2010: The role of cotyledon metabolism in the establishment of quinoa (*Chenopodium quinoa*) seedlings growing under salinity. *Plant and Soil* 326:213-224.

***Ruiz, E., 1995:** Agrometeorología. First ed. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Hacienda Buenavista, Coahuila, México (1995) pp. 81–101

Ruiz, K. B., Biondi, S., Oses, R., Acuña-Rodríguez, I. S., Antognoni, F., Martínez-Mosqueira, E. A., Coulibaly, A., Canahua-Murillo, A., Pinto, M., Zurita-Silva A., Bazile, D., Jacobsen, S. E., Molina-Montenegro M. A. 2014: Quinoa biodiversity and sustainability for food security under climate change. A review. *Agronomy for Sustainable Development* 34:349–359.

Ruiz-Carrasco, K., Antognoni, F., Coulibaly, A. K., Lizardi, S., Covarrubias, A., Martínez, E. A., Molina-Montenegro, M. A., Biondi, S., Zurita-Silva, A. 2011: Variation in salinity tolerance of four lowland genotypes of quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) as assessed by growth, physiological traits, and sodium transporter gene expression. *Plant Physiology and Biochemistry* 49:1333–1341.

Rosa, M., Hilal, M., J. A., González J. A., Prado F.E. 2004: Changes in soluble carbohydrates and related enzymes induced by low temperature during early developmental stages of quinoa (*Chenopodium quinoa*) seedlings. *Journal of Plant Physiology* 161:683–689.

Rosa, M., Hilal, M., González, J. A., Prado, F. E. 2009: Low-temperature effect on enzyme activities involved in sucrose-starch partitioning in salt-stressed and salt-acclimated cotyledons of quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) seedlings. *Plant Physiology and Biochemistry* 47:300-307.

Sanchez, H. B., Lemeur, R., Van Damme, P., Jacobsen, S. E. 2003: Ecophysiological analysis of drought and salinity stress of quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.). *Food Reviews International* 19:111-119.

Schachtman, D. P., Goodger, J. Q. D. 2008: Chemical root to shoot signalling under drought. *Trends in Plant Science* 13:281–287.

Shabala, S., Cuin, T. A. 2008: Potassium transport and plant salt tolerance. *Physiologia Plantarum* 133:651–669.

Shabala, S., Mackay, A. 2011: Ion transport in halophytes. *Advances in Botanical Research* 57:151-187.

Shabala, L., Mackay, A., Tian, Y., Jacobsen, S. E., Zhou, D., Shabala, S. 2012: Oxidative stress protection and stomatal patterning as components of salinity tolerance mechanism in quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd). *Physiologia Plantarum* 146:26-38.

Shabala, S. 2013: Learning from halophytes: physiological basis and strategies to improve abiotic stress tolerance in crops. *Annals of Botany* 112:1209–1221.

Shannon, M. C. 1992: The effects of salinity on cellular and biochemical process associated with salt tolerance in tropical plants. In: Davenport, T. L., Harrington, H. M. (eds.) *Proceedings Plant Stress in the Tropical Environment* pp. 55-63. Florida University, Gainesville, USA.

Shi, H., Ishitani, M., Kim C., Zhu J. K. 2000: The *Arabidopsis thaliana* salt tolerance gene SOS1 encodes a putative Na⁺ /H⁺ antiporter. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 97:6896–6901.

Skarbø, K. 2015: From lost crop to lucrative commodity: Conservation implications of the quinoa renaissance. *Human Organization* 74:86–99.

Stikic, R., Glamoclija, D., Demin, M., Vucelic-Radovic, B., Jovanovic, Z., Milojkovic-Opsenica, D., Jacobsen, S. E., Milovanovic, M. 2012: Agronomical and nutritional evaluation of quinoa seeds (*Chenopodium quinoa* Willd.) as an ingredient in bread formulations. *Journal of Cereal Science* 55:132–138.

Stone, J. M., Palta, J. P., Bamberg, J. B., Weiss, L. S., Harbage, J. F. 1993: Inheritance of freezing resistance in tuber-bearing *Solanum* species: evidence for independent genetic control of nonacclimated freezing tolerance and cold acclimation capacity. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 90:7869–7873.

Sun, Y., Liu, F., Bendevis, M., Shabala, S., Jacobsen, S.E. 2014: Sensitivity of Two Quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) Varieties to Progressive Drought Stress. *Journal of Agronomy and Crop Science* 200:12-23.

Tang, Y., Li, X., Chen, P. X., Zhang B., Hernandez M., Zhang H., Marccone M. F., Liu R., Tsao R. 2015: Characterization of fatty acid, carotenoid, tocopherol/tocotrienol compositions

and antioxidant activities in seeds of three *Chenopodium quinoa* Willd. genotypes. Food Chemistry 174:502-508.

* **Tapia, M. E. 1980:** Origen, Distribución Geográfica y Sistemas de Producción de la Quinoa. In: PISCA-UNTA-IBTAIICA-CIID, Ed., Reunión Sobre Genética Y Fitomejoramiento de la Quinoa, Puno, 1980.

Tester, M., Davenport, R., 2003: Na⁺ Tolerance and Na⁺ Transport in Higher Plants. Annals of Botany 91:503–527.

Vacher, J. J. 1998: Responses of two main Andean crops, quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) and papa amarga (*Solanum juzepczukii* Buk.) to drought on the Bolivian Altiplano: Significance of local adaptation. Agriculture, Ecosystems & Environment 68:99–108.

Zhang, Y., Lai, J., Sun, S., Li, Y., Liu, Y., Liang, L., Chen, M., Xie, Q. 2008: Comparison Analysis of Transcripts from the Halophyte *Thellungiella halophila*. Journal of Integrative Plant Biology 50:1327-1335.

* - sekundární citace